

# Die saadknop en aspekte van kieming by *Crinum bulbispermum* en *C. macowanii*

P.J. Robbertse, J.G.C. Small en Irmgard von Teichman

Margaretha Mes-Instituut vir Saadnavorsing, Departement Plantkunde, Universiteit van Pretoria

**The ovule and aspects of germination in *Crinum bulbispermum* and *C. macowanii*.** Apart from an integument primordium, integuments are lacking in the ovules of the studied species. The plants are self- as well as cross-pollinating. Naked embryos were found among well-developed seeds in the fruits. The seeds germinate spontaneously in dry containers. Although light has no effect on germination, it inhibits bulb formation in the seedlings.

*S. Afr. J. Bot.* 1983, 2: 57–62

Afgesien van 'n integumentprimordium ontbreek die integumente by die ondersoekte soorte. Die plante is self- of kruisbestuiwend. Naakte embrio's kom tussen goed ontwikkelde sade in die vrugte voor. Die saad kiem spontaan in droë houers, en alhoewel lig nie 'n invloed op die kieming het nie, word bolvorming by die kiemplante wel deur lig onderdruk.

*S.-Afr. Tydskr. Plantk.* 1983, 2: 57–62

**Keywords:** *Crinum*, naked ovule, naked embryo, germination

## Inleiding

In sy oorsig oor 'bulbiform seeds of certain Amaryllideae' in 1901 meld Rendle dat Paul Hermann reeds in 1687 melding gemaak het van die knolvormige sade by *Crinum asiaticum* ('*Lilium zeylanicum umbelliferum et bulbiferum*'). Ander persone wat volgens Rendle melding maak van die buitengewone sade by *Crinum* is Gaertner (1787), Medicus (1803), Robert Brown (1810 & 1818), Salisbury (1866), Richard (1824), Van Hall (1840), Prillieux (1858), Braun (1860) en Goebel (1889). In 1931 beskryf Tomita die volledige ontwikkeling van die naakte saadknop by *Crinum latifolium* L. en wys ook op die ontwikkeling van naakte embrio's.

Ten spyte van heelwat werk wat daar reeds oor die saad van bepaalde *Crinum*-soorte gedoen is, is daar nog min werk in dié verband op die Suid-Afrikaanse soorte gedoen. In hierdie artikel word verslag gedoen oor die saadknop en saadmorfologie sowel as bestuiwing en saadkieming van *C. bulbispermum* (Burm.) Milne-Redhead en *C. macowanii* Bak. Hierdie inligting word in verband gebring met bestaande inligting oor die voortplanting by ander *Crinum*-soorte.

## Materiaal en Metode

Plante wat vir hierdie ondersoek gebruik is, is aangeplant in die tuin van die Departement Plantkunde van die Universiteit van Pretoria. Self-, buur- en kruisbestuiwings is gedurende November en Desember 1981 op die plante uitgevoer. Moontlik as gevolg van 'n hittegolf wat gedurende November geheers het, het daar ten spyte van goeie stuifmeelkieming op die stempels, min sade gevorm. Gedurende Desember het elke bestuifde blom wel saad gevorm.

Vir die ondersoek van die stuifmeelbuis is vars stempels vir een uur by 60 °C in 0,8 mol dm<sup>-3</sup> KOH verhit en daarna in 'n oplossing van 0,1% anilienblou in 0,3 mol dm<sup>-3</sup> K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> gekleur en gemonteer. Die preparate is met 'n Reichert-UNIVAR-mikroskoop wat vir epifluoressensie toegerus is, bestudeer.

Handsneë is van vars saadknoppe gemaak, in propionkarmyn gekleur en in gliserien gemonteer. Saadknoppe is ook met glutaraaldehid gefikseer en volgens die metode van Feder & O'Brien (1968) gedehidreer en in glikolmeta-kriilaat ingebed. Die monomeermengsel wat gebruik is, is deur Von Teichman und Logischen & Robbertse (1981)

P.J. Robbertse,\* J.G.C. Small en Irmgard von Teichman  
Margaretha Mes-Instituut vir Saadnavorsing, Departement Plantkunde,  
Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002, Republiek van Suid-Afrika  
\*Aan wie korrespondensie gerig moet word

beskryf. Sneë van ongeveer 2  $\mu\text{m}$  dik is op 'n Reichert OM U3 ultramikrotoom gesny. Die sneë is gebruik vir die perjodiumsuur-Schiff reaksie (P.A.S.), (Feder & O'Brien 1968). Vir kontraskleuring is die sneë vir 1–5 min in 0,05% toluidienblou gekleur (Sidman *et al.* 1961).

Weens 'n tekort aan saad kon kiemingsbehandelings nie met *C. macowanii* herhaal word nie. In die geval van *C. bulbispermum* is sewe herhalings van 20 sade elk per behandeling gebruik.

Behandelings het daaruit bestaan dat sade droog in die lig en donker of in klam sand in die donker geïnkubeer is. Die sade wat droog geïnkubeer is, is in deurskynende plastiekbakkies (200 mm lank  $\times$  100 mm breed  $\times$  80 mm diep) met deurskynende deksels geplaas. 'n Donkerbehandeling is verkry deur die bakkies met aluminiumfoelie toe te draai. By die ligbehandeling is bakkies met sade kontinu aan witlig ( $13,2 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) afkomstig van 'Cool white' buislampe blootgestel.

Sade wat klam geïnkubeer is, is in growwe riviersand in plastiekbakkies geplant sodat elke saad se bokant gelyk met die sandoppervlak in die bakkie was. Die sand is gereeld met tussenposes benat totdat die water onder uit die houers begin dreineer het. Die bakkies is met aluminiumfoelie bedek wat net vir kort periodes opgelig is wanneer die sand benat is.

Al die houers met saad is in 'n temperatuurbeheerde kamer by  $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$  geplaas.

## Resultate en Bespreking

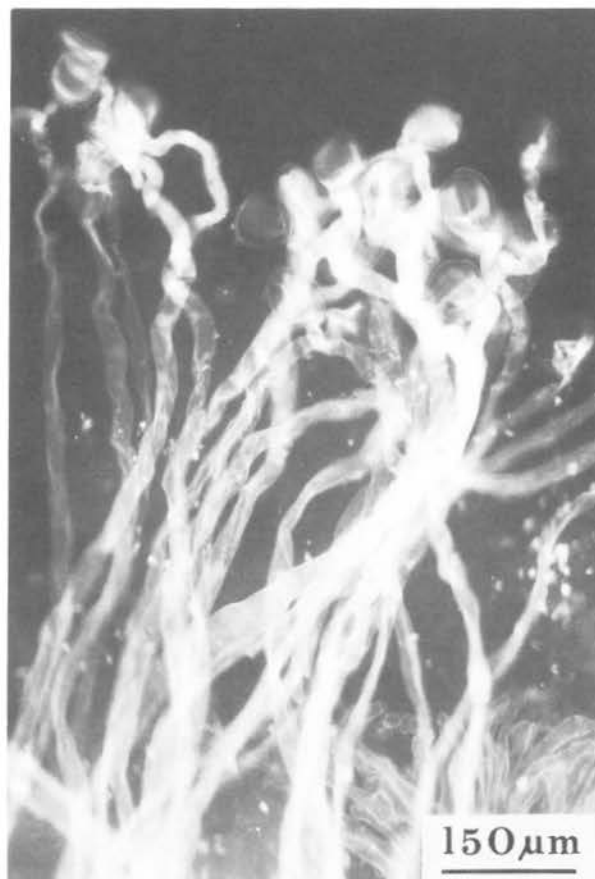
### Bestuiwing

Die blomme van albei spesies is protandries en gaan in die oggende om en by 08h00 oop. Die helmknoppe is reeds voor antese oop terwyl die stempels eers na antese ontvanklik is. Ontvanklike stempels skei 'n vloeistof af, met die gevolg dat dit as 'n nat stempeltipe beskou kan word (Heslop-Harrison & Shivanna 1977). Blomme van albei spesies is met die nodige voorsorg selfbestuif, buurbestuif en kruisbestuif en in alle gevalle het stuifmeel gekiem (Figuur 1) en bevrugting bewerkstellig. Die stuifmeelbuisse groepeer in drie bondels in die stempel (een bondel vir elke lob) en groei so verder tot in die vrughok waar een bondel stuifmeelbuis verantwoordelik is vir die bevrugting van die saadknoppe in 'n bepaalde vrughok. Hierdie waarneming kan in verband gebring word met Johri (1966) se bevinding waar hy aantoon dat die basale gedeelte van die styl van *C. deflexum* drie buise, wat met geleidingsweefsel ('transmitting tissue') uitgevoer is, bevat.

Die stuifmeelbuisse groei relatief vinnig en ten spyte van die lang styl (ongeveer 150 mm) het die stuifmeelbuisse die saadknoppe reeds binne 24 uur bereik. Dit is opvallend dat die stuifmeelbuisse in ouer vrugbeginsels waar die sade reeds 'n gevorderde stadium van ontwikkeling bereik het, nog steeds ongeskonde is.

### Saadknopmorfologie

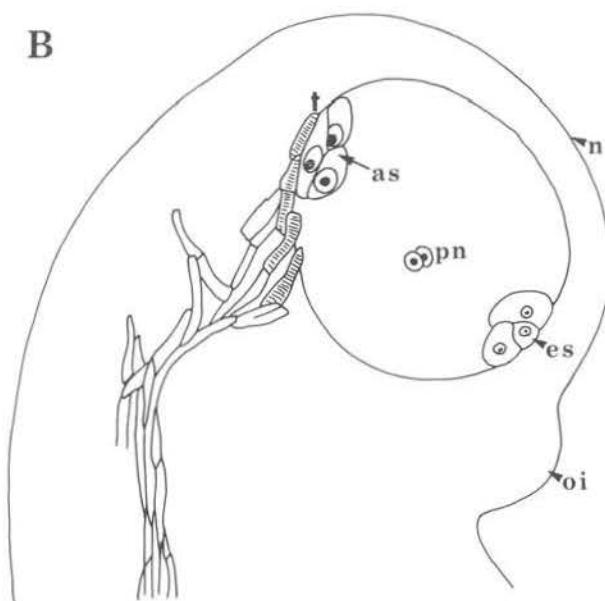
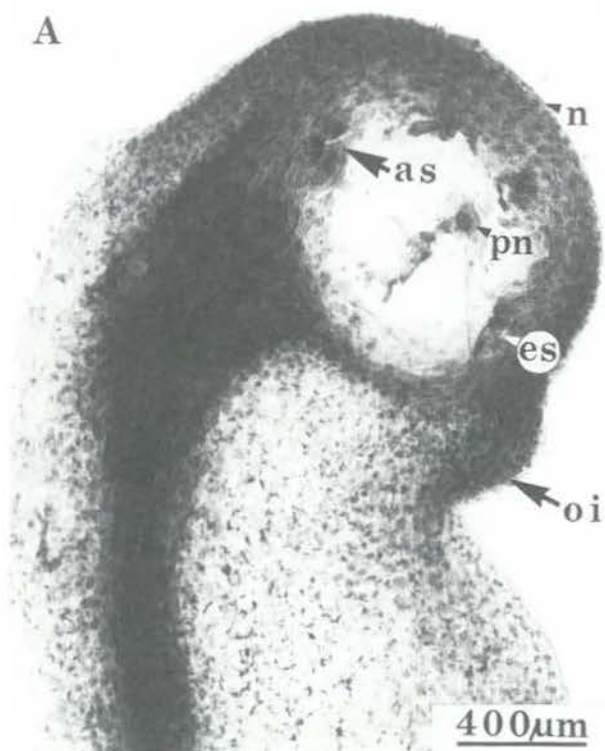
By albei ondersoekte soorte is die vrugbeginsel driehoekig en in elke vrughok kom 'n skildvormige plasenta voor met die saadknoppe om die rand van die skild gerangskik. Die saadknoppe is neotemies in die sin dat hulle, in die stadium waarop die embriosak reeds volledig ontwikkel het, uitwendig nog feitlik in 'n primordiale stadium verkeer. Afgesien



**Figuur 1** Een van die drie bondels stuifmeelbuisse in 'n kruisbestuifde stempel van *C. bulbispermum*.

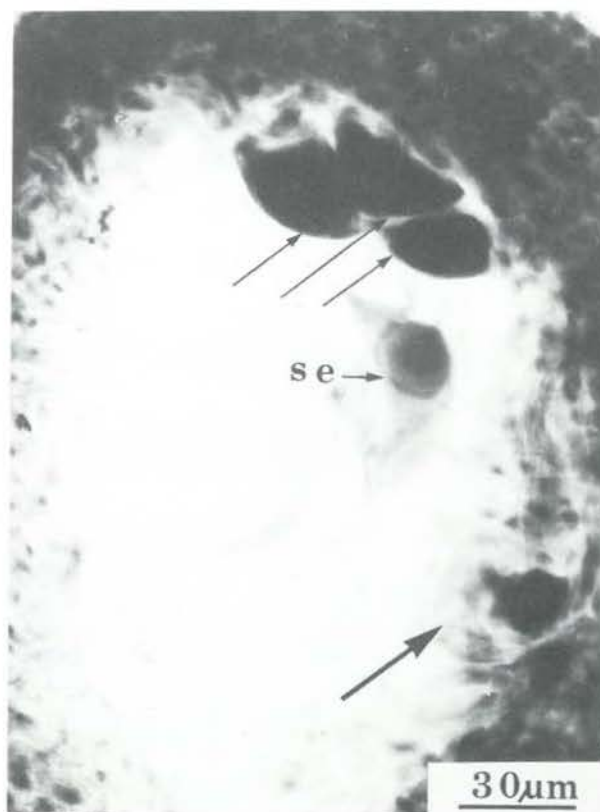
van 'n uitstulping aan die ventro-proksimale kant van die saadknop wat die primordium van die integument verteenwoordig, kom daar geen integumente voor nie (Figuur 2A). Naakte saadknoppe by *Crinum* is volgens Rendle (1901) reeds deur Prillieux (1859) en Goebel (1889) beskryf. 'n Eienaardige verskynsel is dat terminale trageiede in die chalasala gedeelte direk teenaan die antipodale selle grens (Figuur 2B).

Die embriosak is 8-nukleër, terwyl die saadknop as anatropies of hemi-anatropies beskryf kan word. Die antipodale selle is buitengewoon groot (Figure 2 & 3) met besonder groot nukleusse. Tschermak-Woess (1957) beskryf die verskynsel van endopoliploidie by *Clivia miniata* en gee ook 'n skets van die nukleus met die groot, ineengevlegde chromosome. Aangesien die nukleusse van die antipodale selle van die twee ondersoekte *Crinum*-spesies visueel ooreenstem met die skets van Tschermak-Woess, bestaan die moontlikheid dat endopoliploidie ook by hierdie soorte kan voorkom. 'n Verskynsel wat hierdie vermoede versterk is die feit dat die nukleolusse in pasgevormde antipodale selle duidelik sigbaar is (Figuur 2B) terwyl die nukleusse van ouer antipodale selle gevul is met die digte massa chromosoommateriaal (Figuur 3). Hierdie moontlikheid word verder ondersoek. Die poolnukleusse versmelt voor bevrugting. 'n Duidelike filiforme apparaat kom by die sinergiede voor (Figuur 4). Volgens Schlömbach (1924) en soos ook in hierdie ondersoek opgemerk, disintegreer die sinergiede kort na bevrugting terwyl die antipodale selle nog 'n paar dae na

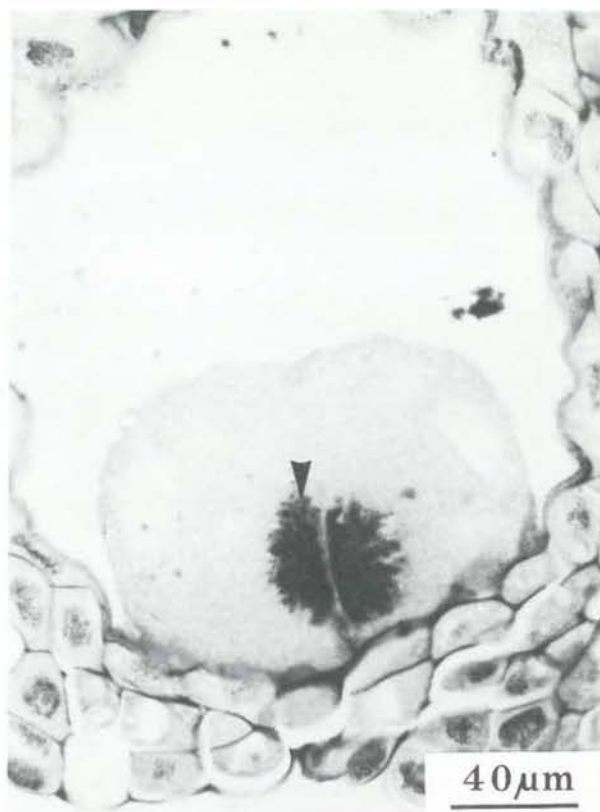


**Figuur 2** Mikrograaf (A) en lyntekening (B) van 'n handsnee van *C. bulbispermum* saadknop. as = antipodale selle, es = eiersel, n = naakte nusellus, oi = integumentprimordium, pn = poolnukleusse, t = trageied.

bevrugting hul vorm en grootte behou. Die endosperm is van die nukleêre tipe (Foster & Gifford 1974), maar die embriosak word enkele dae na bevrugting met endospermselle gevul waarna die endospermselle mitoties verdeel terwyl die omringende nusellusselle geabsorbeer word. Dit wil voorkom of 'n groep endospermselle in die chalasale streek mitoties meer aktief is (Figuur 5A) aangesien hulle donkerder kleur as die distaal geleë selle en verskillende stadiums van mitose hier waargeneem is (Figuur 5B). Die gevolg is dan ook dat die embryo in die volwasse saad min of meer sentraal geleë is. Die endospermontwikkeling by *C. latifolium* word deur

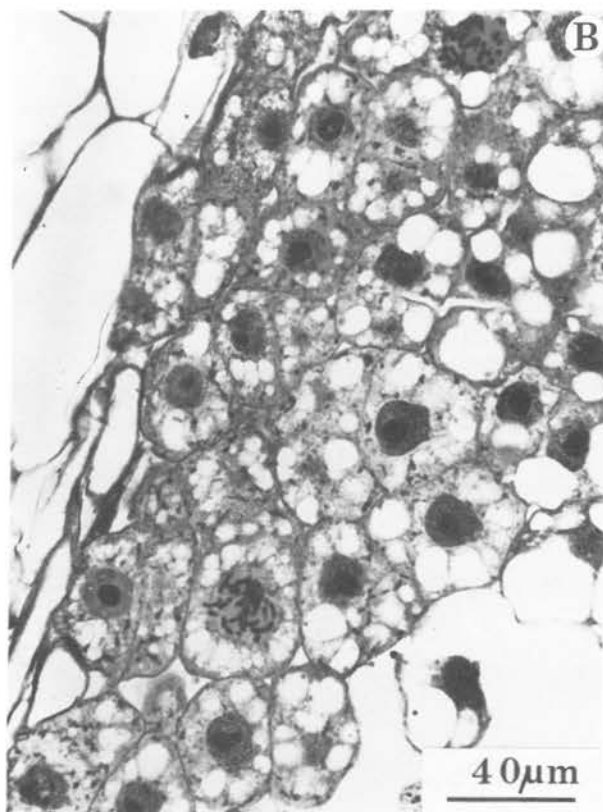
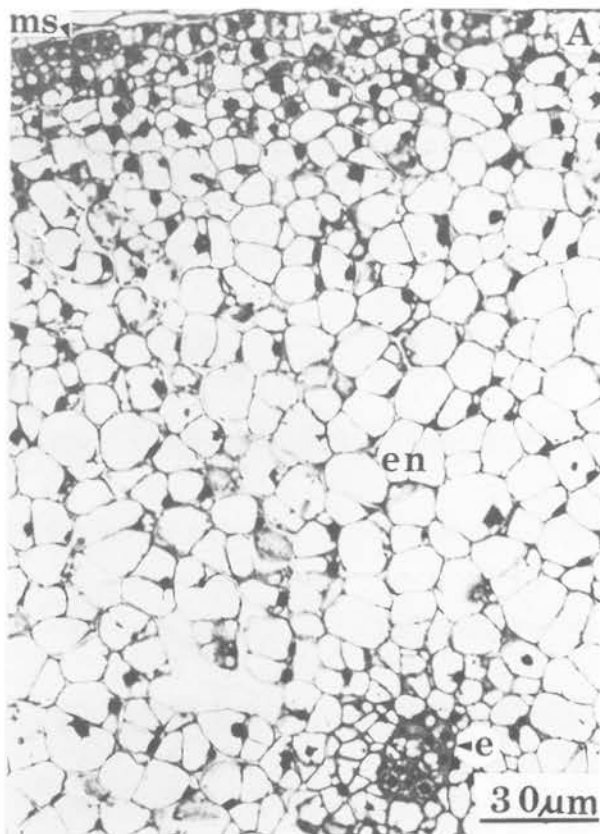


**Figuur 3** 'n Gedeelte van die embriosak van *C. bulbispermum* wat die ouer antipodale selle (klein pyltjies), die sekondêre embriosaknukleus (se) en die eierapparaat (pyl) toon.



**Figuur 4** 'n Deel van die embriosak van *C. bulbispermum* wat die filiforme apparaat (pyl) in die sinergiede toon.





**Figuur 5** 'n Lengtesnee van 'n jong saad van *C. bulbispermum* wat in A die endosperm (en), embryo (e) en meristematiese streek (ms) en in B 'n vergroting van die meristematiese streek in die omgewing van die chalasa toon.

Tomita (1931) beskryf maar by genoemde soort is die haploïede getal 12 terwyl dit by *C. bulbispermum* 11 is (Van der Walt *et al.* 1970).

Chloroplaste kom in die perifere selle van die endosperm voor terwyl vertakte mitochondrions ook waargeneem is. Geen setmeelkorrels kom voor nie. Die wande van die buitenste endospermselle verkurk en vorm 'n dun beskermende lagie rondom die saad.

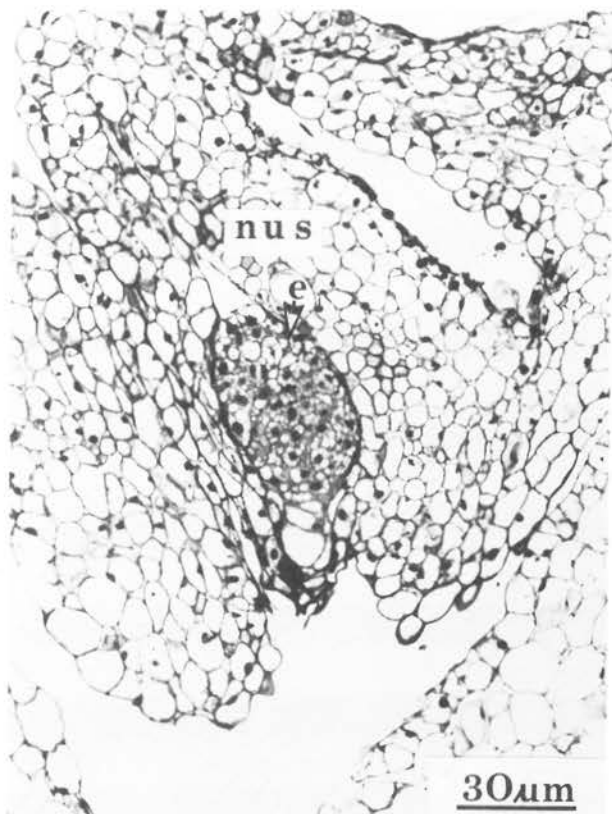
#### Naakte embryo's

Naakte embryo's word gereeld tussen die volwasse sade in ryp vrugte aangetref. Die embryo's word gevorm deurdat die sentrale sel nie bevrug word nie terwyl die bevrugte eiersel aan 'n sigoot en goed ontwikkelde embryo oorsprong gee (Figuur 6). Die ontwikkelende embryo absorbeer die omringende nusellus waarna dit naak in die vrughok lê. Tomita (1931) gee 'n volledige beskrywing van die ontstaan van naakte embryo's by *C. latifolium* wat basies ooreenstem met dié van *C. bulbispermum* wat hierbo beskryf word.

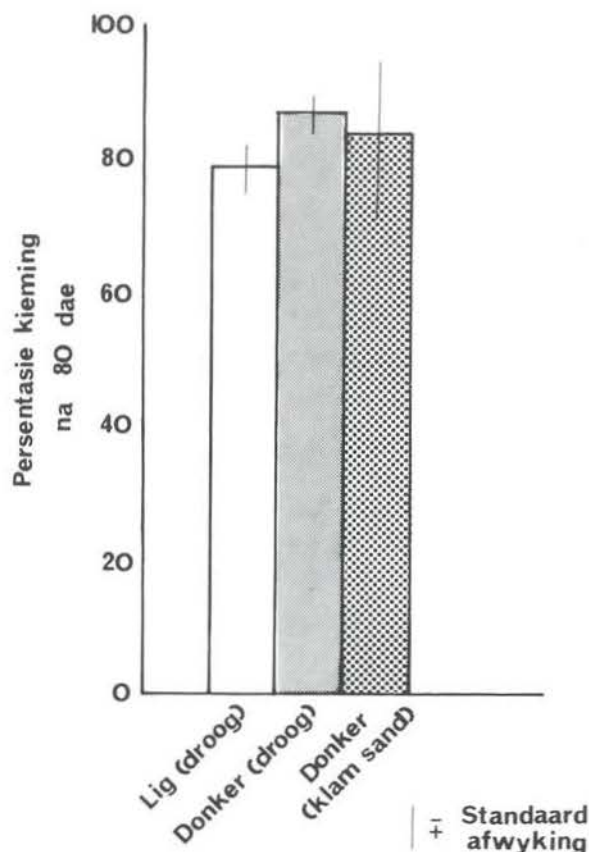
Ongeveer vier weke na bestuiwing is die saad ryp en disintegreer die vrugwand sodat die saad vrygestel word. Die saad varieer in grootte van ongeveer 5 mm tot 30 mm in deursnee.

#### Kieming

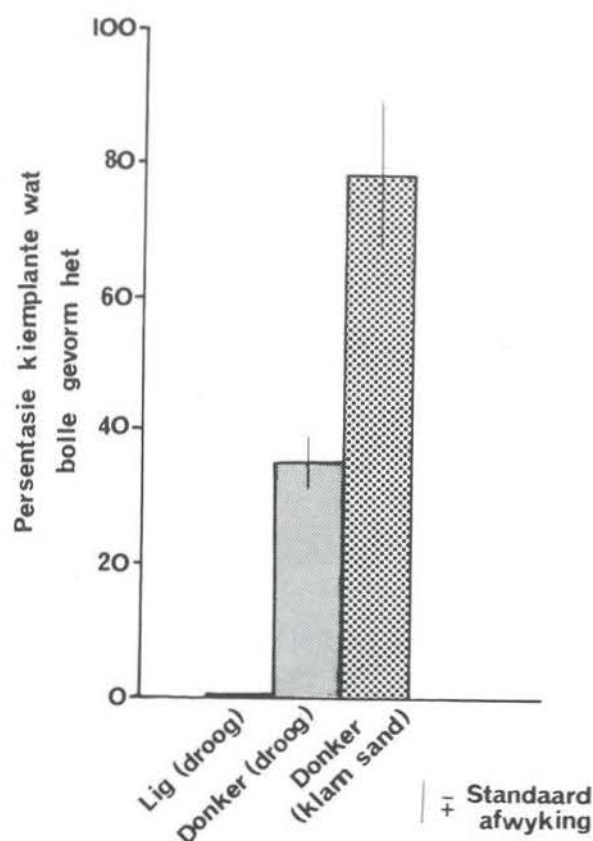
Vergelykbare resultate is met die twee spesies verkry. Omdat behandelings met *C. macowanii* nie herhaal kon word nie, word hoofsaaklik resultate van proewe met *C.*



**Figuur 6** 'n Snee van 'n gedeelte van die plasenta wat 'n 'naakte' embryo (e) in die naakte nusellus (nus) aantoon.



**Figuur 7** Invloed van inkuberingstoestand op kieming by *C. bulbispermum*.



**Figuur 8** Invloed van inkuberingstoestand op bolvorming by *C. bulbispermum*.

*bulbispermum* bespreek.

Kieming word nie grootliks deur lig beïnvloed nie (Figuur 7) terwyl bolvorming egter by albei spesies deur lig gerem word (Figure 8 & 9).

By sade van *C. bulbispermum* wat droog in die donker kiem, verleng die saadlobskede tot ongeveer 30 tot 40 mm waarna die basale gedeelte rondom die plumula by ongeveer 35% van die kiemplant begin opswel en bolle vorm (Figuur 9A). Die radikula verleng tot ongeveer 2–10 mm waarna dit aborteer. Die eerste vegetatiewe blaar verleng in die saadlobskede en breek dig by die punt waar die saadlobskede die saad verlaat, deur die skede. Die bolle wat by *C. macowanii* vorm, toon 'n skerper oorgang tussen die bol en res van die saadlobskede (Figuur 9B) terwyl die oorgang by *C. bulbispermum* meer geleidelik is (Figuur 9A). By sade wat aanhoudend aan lig blootgestel is, hou die saadlobskede aan om te verleng sonder dat bolle gevorm word (Figuur 9C & D). Toe die proef na vier maande afgesluit is, was die saadlobskedes van die groter sade reeds 60 tot 140 mm lank en was daar geen aanduiding van bolvorming by enige van die spesies nie.

Waar die saad in sand geplant is, verleng die saadlobskede ook tot ongeveer 30 tot 40 mm voordat bolle gevorm word (Figuur 9E).

Die waarneming dat sade wat droog geïnkubeer word, wel kiem, is al by verskeie Amaryllidaceae-spesies met knolagtige sade waargeneem (Rendle 1901). Sover vasgestel kon word, is die remmende invloed van lig op bolvorming by die

kiemplant nog nie gerapporteer nie. Die meganisme van hierdie liginvloed word tans ondersoek.

### Erkennings

Die navorsing is onderneem met fondse wat met dank van die Wetenskaplike en Nywerheidsnavorsingsraad, Pretoria en Universiteit van Pretoria ontvang is.

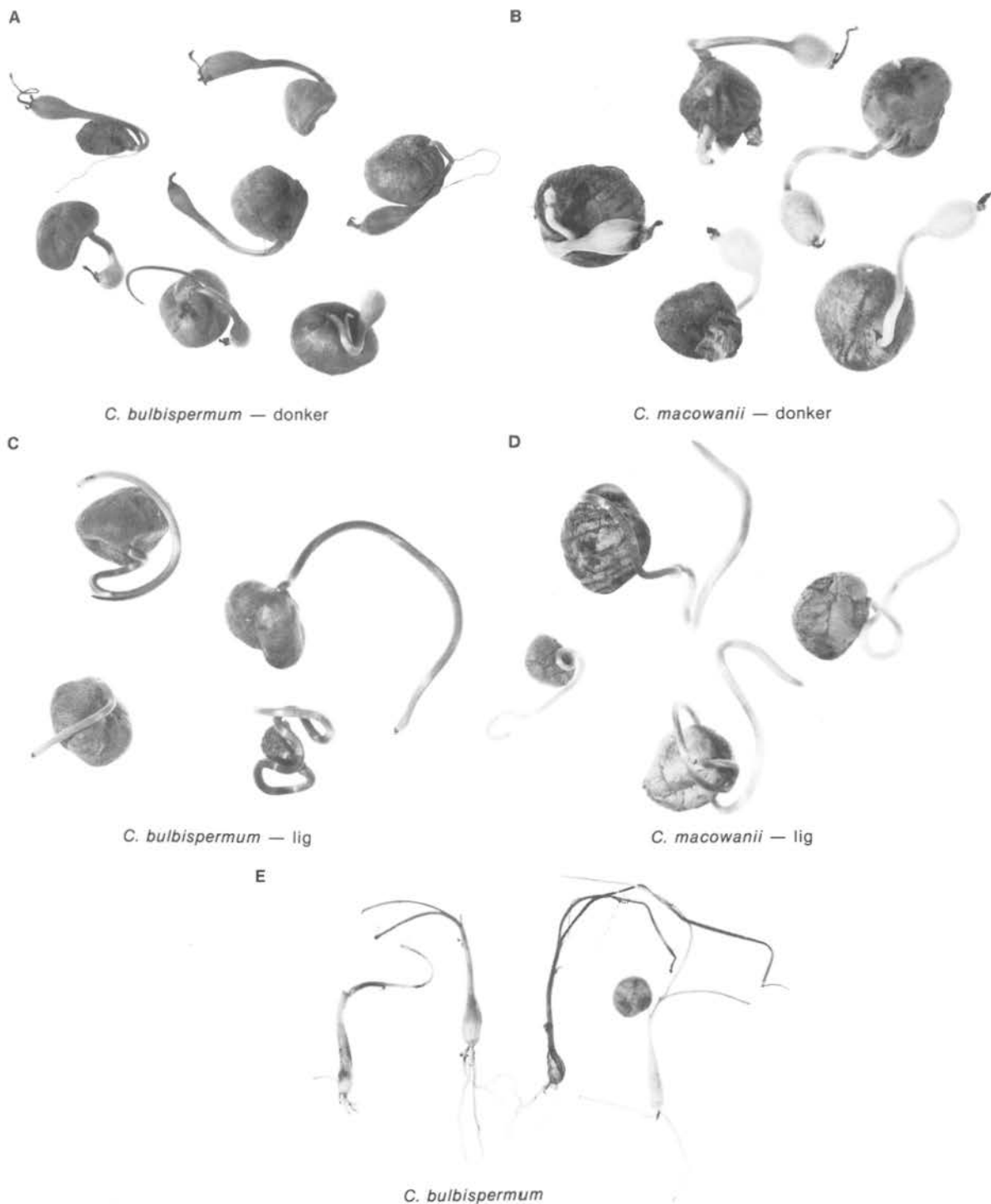
### Summary

Ovules of both investigated species are naked and the only indication of an integument is a protuberance on the convex side of the curved ovule. The embryo sac is 8-nucleate with very large antipodal cells suggesting endopolyploidy. Both species are self- as well as cross-pollinating. Naked embryos developing from ovules of which only the egg cells were fertilized, were found among seeds in the locules. Seeds ripen about four weeks after pollination.

Seeds germinate spontaneously when incubated dry in plastic dishes. White light from cool white fluorescent tubes does not affect germination. The formation of bulbs in seedlings is, however, inhibited by white light.

### Verwysings

- FEDER, N. & O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: Some principles and new methods. *Am. J. Bot.* 55: 123–142.
- FOSTER, A.S. & GIFFORD, E.M. Jr. 1974. Comparative morphology of vascular plants (2nd edn). Freeman, San Francisco.
- HESLOP-HARRISON, Y. & SHIVANNA, K.R. 1977. The Receptive Surface of the Angiosperm Stigma. *Ann. Bot.* 41: 1233–1258.



**Figuur 9** Kiemplanten van *C. bulbispermum* en *C. macowanii* om die invloed van lig op bolvorming aan te toon. A, B & D =  $\times 0,6$ ; C =  $\times 0,7$ ; E =  $\times 0,3$ .

- JOHRI, M.M. 1966. The style, stigma and pollentube. III. Some taxa of the Amaryllidaceae. *Phytomorphology* 16: 142–157.
- RENDLE, A.B. 1901. The bulbiform seeds of certain Amaryllideae. *J. Bot., Lond.* 39: 369–378.
- SCHLIMBACH, H. 1924. Beiträge zur Kenntnis der Samenanlagen und Samen der Amaryllidaceen mit Berücksichtigung des Wassergehaltes der Samen. *Flora, Jena* 117: 41–54.
- SIDMAN, R.L., MOTTOLA, P.A. & FEDER, N. 1961. Improved polyester wax embedding for histology. *Stain Technol.* 36: 279–284.
- TOMITA, K. 1931. Über die Entwicklung des nackten Embryos von *Crinum latifolium* L. *Sci. Rep. Tôhoku Univ.* 6: 163–169.

TSCHERMAK-WOESS, E. 1957. Über Kernstrukturen in den endopolyploiden Antipoden von *Clivia miniata*. *Chromosoma* 8: 637–649.

VAN DER WALT, E.L., GEERTHSEN, J.M.P. & ROBBERTSE, P.J. 1970. 'n Sitogenetiese studie van die genus *Crinum* Linn. in Suid-Afrika. *Agroplantae* 2: 7–14.

VON TEICHMAN UND LOGISCHEN, I. & ROBBERTSE, P.J. 1981. The subterranean intermediary organs of *Dioscorea cotinifolia* Kunth: 2. Anatomy of these organs in comparison with that of a typical root and shoot. *Jl S. Afr. Bot.* 47: 637–651.